Αγγειογενετικοί παράγοντες
Ο ρόλος τους στις ΙΦΕΝ

Β' Μέρος

Α. ΚΑΨΩΡΙΤΑΚΗ[1], Ε. ΤΙΑΚΑ[2], Α. ΜΑΝΩΛΑΚΗΣ[2], Φ. ΤΣΙΟΠΟΥΛΟΣ[3], Α. ΚΑΨΩΡΙΤΑΚΗΣ[4], Σ. ΠΟΤΑΜΙΑΝΟΣ[5]

[1]Επιμελήτρια Β, Εργαστήριο Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, [2]Επιστημονικός Συνεργάτης, Πανεπιστημιακή Γαστρεντερολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, [3]Ειδικευόμενος, Πανεπιστημιακή Γαστρεντερολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, [4]Επίκουρος Καθηγητής, Πανεπιστημιακή Γαστρεντερολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, [5]Αναπληρωτής Καθηγητής, Πανεπιστημιακή Γαστρεντερολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Αγγειογενετικοί παράγοντες

Η αγγειογένεση ρυθμίζεται από ενεργοποιητές και αναστολείς όπως παρουσιάζονται στους πίνακες 1 και 2 αντίστοιχα. Φυσιολογικά, οι αναστολείς κυριαρχούν αποτρέποντας τη συνεχή αγγειογενετική δραστηριότητα. Όταν όμως προκύπτει η ανάγκη για νέα αιμοφόρα αγγεία, οι ενεργοποιητές της αγγειογένεσης παρουσιάζουν αυξημένη δραστηριότητα, ενώ το αντίθετο συμβαίνει με τους αναστολείς.

Πολλές πρωτεΐνες και διάφορα μόρια έχουν ταυτοποιηθεί ως αγγειογενετικοί παράγοντες και απελευθερώνονται κατόπιν ερεθίσματος για αύξηση ή αναστολή της αγγειογένεσης. Δύο πρωτεΐνες όμως φαίνεται να είναι οι σημαντικότερες για την αγγειογένεση, ο αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου των αγγείων (VEGF) και ο βασικός αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (b-FGF), που και οι δύο παράγονται από πολλούς τύπους καρκινικών και φυσιολογικών κυττάρων. Οι παράγοντες αυτοί συνδέονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα με συγκεκριμένους υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης. Η σύνδεση στον κατάλληλο υποδοχέα ενεργοποιεί μια σειρά από πρωτεΐνες που διαβιβάζουν το ερέθισμα στον πυρήνα των ενδοθηλιακών κυττάρων. Το πυρηνικό αυτό σήμα τελικώς διεγείρει μια ομάδα γονιδίων στην παραγωγή των προϊόντων που απαιτούνται για την ανάπτυξη νέων ενδοθηλιακών κυττάρων και μία σειρά αντιδράσεων που έχουν ως τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία νέων αιμοφόρων αγγείων. Αρχικά, τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν μεταλλοπρωτεϊνάσες, μία ειδική τάξη ενζύμων που αποδομούν τη μεσοκυττάρια ουσία και αποτελούνται από πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. Ο καταβολισμός της μεσοκυττάριας ουσίας επιτρέπει τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα καθώς μεταναστεύουν στους περιβάλλοντες ιστούς, διαιρούνται και οργανώνονται σε κοίλα σωληνάρια που εξελίσσονται σταδιακά σε ώριμο δίκτυο αιμοφόρων αγγείων.

Για την έναρξη της ανάπτυξης νέων αγγείων όμως δεν αρκεί μόνο η παρουσία των μορίων που προάγουν την αγγειογένεση αλλά και η καταστολή των αναστολέων της αγγειογένεσης, οι οποίοι φυσιολογικά παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων. Από τις ουσίες που αναστέλλουν την αγγειογένεση η αγγειοστατίνη, η ενδοστατίνη και η θρομβοσπονδίνη φαίνεται ότι είναι οι πλέον σημαντικές. Μια ισορροπία λοιπόν μεταξύ της συγκέντρωσης των αναστολέων και των ενεργοποιητών καθορίζει αν θα ακολουθήσει ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων ή όχι[16].

Η ανακάλυψη των αναστολέων της αγγειογένεσης θέτει το ερώτημα αν τέτοια μόρια θα μπορούσαν θεραπευτικώς να διακόψουν ή να περιορίσουν την εμφάνιση νοσημάτων που παρουσιάζουν έντονη αγγειογενετική δραστηριότητα. Οι αναστολείς της αγγειογένεσης όπως η ενδοστατίνη και η αγγειοστατίνη έχουν ήδη δοκιμασθεί στη θεραπεία και στην επιβράδυνση των μεταστάσεων στους όγκους. Τα τελευταία χρόνια οι ερευνητές καταβάλλουν μεγάλη προσπάθεια στην ανάλυση της μοριακής διαδικασίας που εμπλέκεται στην αγγειογένεση. Πολλοί παράγοντες που ελέγχουν το φαινόμενο έχουν αναγνωριστεί και μερικοί αναλύονται παρακάτω.

Ενεργοποιητές αγγειογένεσης

Αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου των αγγείων (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)

Ο VEGF είναι μία πολυδύναμη κυτταροκίνη που εμπλέκεται στην παθογένεια ποικίλων νεοπλασματικών και μη χρονίων νοσημάτων. Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στα φλεγμονώδη νοσήματα, στη φυσιολογική και παθολογική αγγειογένεση, την ανάπτυξη και τη μετάσταση των όγκων, την αποκατάσταση της ιστικής βλάβης, τις αντιδράσεις επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας, τις αμφιβληστροειδοπάθειες, την ισχαιμία κ.τ.λ[17].

Ο VEGF έχει μιτωτική δράση στο ενδοθήλιο των αγγείων προάγοντας τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση και αναστέλλοντας την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων, τα καρκινικά κύτταρα, τους ινοβλάστες, τα λεμφοκύτταρα και τα κύτταρα που συσσωρεύονται στην περιοχή της φλεγμονής. Την παραγωγή του VEGF επάγουν κυτταροκίνες που προάγουν τη φλεγμονή, διάφοροι αυξητικοί παράγοντες και η ιστική υποξία. Ο VEGF στις φυσιολογικές καταστάσεις είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη της αγγείωσης του εμβρύου, την αποκατάσταση της βλάβης των ιστών, την ανάπτυξη του ενδομητρίου και του πλακούντα. Οι υποδοχείς Flt-1 και Flk-1 του VEGF εκφράζονται στα ενδοθηλιακά και μερικά καρκινικά κύτταρα[18].

Οι Ito et al. επισημαίνουν ότι σε περιοχές με χρόνια φλεγμονή, ο VEGF παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του οιδήματος[19]. Επίσης υπερέκφραση του VEGF-mRNA από τα μονοπύρηνα κύτταρα βρέθηκε σε αντιδράσεις επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας και στη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Επιπλέον φαίνεται ότι είναι σημαντικός ρυθμιστής στα χρόνια κοκκιωματώδη νοσήματα[17].

Η NC είναι εντερική νόσος που χαρακτηρίζεται ιστολογικά από την παρουσία κοκκιωμάτων. Το κοκκίωμα στη NC αναπτύσσεται σε όλα τα στρώματα του εντερικού τοιχώματος και είναι τύπου υπερευαισθησίας. Σε πρόσφατη μελέτη διαπιστώθηκαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα VEGF στον ορό πασχόντων με NC και EK[20] που επιβεβαιώνουν τα ευρήματα και άλλων μελετών[18,21] και πιθανώς ο VEGF παίζει σημαντικό ρόλο στις ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις εντερικές νόσους (ΙΦΕΝ) και επεμβαίνει στην επαναφορά της κυκλοφορίας και στην αποκατάσταση της βλάβης στο φλεγμαίνον έντερο[22]. Οι Griga et al. διαπίστωσαν αυξημένα επίπεδα VEGF στον ορό πασχόντων με ενεργό EK και NC σε σχέση με μη ενεργούς πάσχοντες. Οι Bousvaros et al. παρατήρησαν ότι ο VEGF σε παιδιά με NC απελευθερώνεται από τους φλεγμονώδεις ιστούς. Τέλος σύμφωνα με τους Wakefield et al. η εμφάνιση της NC ίσως να οφείλεται σε αγγειϊτιδικές αποφράξεις, οπότε οι κυτταροκίνες που προάγουν την αγγειογένεση όπως ο VEGF επαναφέρουν την κυκλοφορία και αποκαθιστούν τη βλάβη στο φλεγμαίνον έντερο. Ο VEGF, επιπλέον, εμπλέκεται σε πλήθος παθολογικών καταστάσεων του γαστρεντερικού σωλήνα όπως τον καρκίνο του οισοφάγου, του στομάχου, του εντέρου και του παγκρέατος αλλά και το πεπτικό έλκος. Όσον αφορά το τελευταίο έχει παρατηρηθεί υπερέκφραση του VEGF στα χείλη του γαστρικού έλκους και φαίνεται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην επούλωση του.

Βασικός αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (basic Fibroblast Growth Factor, b-FGF)

Ο b-FGF είναι κυτταροπλασματικό πολυπεπτίδιο που επάγει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και των ινοβλαστών. Συμμετέχει στην αναγέννηση των ιστών, την επούλωση της βλάβης, τη νέκρωση των κυττάρων και την αναδιοργάνωση της εξωκυττάριας ουσίας. Παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μαστοκύτταρα, συνδέεται με την ηπαρίνη και ανευρίσκεται στον εγκέφαλο, την καρδιά, τα νεφρά, τα επινεφρίδια, το έντερο, τον πλακούντα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μακροφάγα[23].

Ο ακριβής μηχανισμός της απελευθέρωσής του από τα κύτταρα δεν έχει διευκρινιστεί, αλλά φαίνεται ότι απελευθερώνεται από νεκρά και βεβλαμένα κύτταρα και από υγιή κύτταρα με εξωκυττάρωση. Ο b-FGF συνδέεται με ποικίλους κυτταρικούς υποδοχείς και επάγει τη σύνθεση του ενδοκυττάριου DNA και την κυτταρική διαίρεση. Στα κύτταρα στόχους του συμπεριλαμβάνονται τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι ινοβλάστες, τα λεία μυϊκά κύτταρα, τα ολιγοδενδροκύτταρα και τα αστροκύτταρα. Σε in ➪

Πίνακας 1. Ενεργοποιητές της αγγειογένεσης

1. Βασικός και όξινος αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών, b- και a- FGF (basic and acidic fibroblast growth factor)
2. Αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού β και α, TGF-b και –a (transforming growth factor b and a)
3. Μεταλλοπρωτεϊνάσες της μεσοκυττάριας ουσίας, MMPs (matrix metalloproteinases)
4. Αυξητικός παράγοντας των ηπατοκυττάρων, HGF (hepatocyte growth factor)
5. Ιντερλευκίνες, ILs (interleukins)
6. Παράγοντας νέκρωσης των όγκων, TNF (tumor necrosis factor)
7. Αγγειογενίνη (angiogenin)
8. Ερυθροποιητίνη, EPO (erythropoietin)
9. Αγγειοποιητίνη-1, Ang-1 (angiopoietin-1)
10. Αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου των αγγείων, VEGF (vascular endothelial growth factor)
11. Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας, EGF (epidermal growth factor)
12. Αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από αιμοπετάλια, PDGF (platelet-derived growth factor)
13. Ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας και αυξητική ορμόνη, IGF και GH (insulin-like growth factor and growth hormone)
14. Παράγοντας 1α επαγόμενος από υποξία, HIF-1a (hypoxia-induced factor 1a)
15. Θυμιδινική φωσφορυλάση, TP (thymidine phosphorylase) (pdecgf)
16. Κυκλοοξυγενάση-2, COX-2 (cyclooxygenase-2)
17. Λεπτίνη (Leptin)

Πίνακας 2. Αναστολείς της αγγειογένεσης

1. Θρομβοσπονδίνη, TSP (thrombospondin)
2. Ενδοστατίνη (endostatin)
3. Αγγειοστατίνη (angiostatin)
4. Ιστικοί αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνασών, TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases)
5. Αιμοπεταλιακός παράγοντας IV, PF-4 (platelet factor IV)
6. Ιντερφερόνη-α, IFN-a (interferon-a)
7. Αγγειοποιητίνη-2, Ang-2 (angiopoietin-2)
8. Ιντερλευκίνη-12, IL-12 (interleukin-12)
9. Τροπονίνη-Ι, Tn-I (troponin-I)
10. 2-Μεθοξυοιστραδιόλη, 2-ME (2-methoxyestradiol)
11. Ρετινοϊκό οξύ (retinoic acid)
12. Βαζοστατίνη (vasostatin)
13. Προλακτίνη και πλακουντιακό γαλακτογόνο, PRL και PL (prolactin and placental lactogen)
14. Ειδικό προστατικό αντιγόνο, PSA (prostate specific antigen)

vitro μελέτες, έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών, των λείων μυϊκών και ενδοθηλιακών κυττάρων, ενισχύει το σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων, επιδρά αυξητικά στα μόρια προσκόλλησης του ενδοθηλίου και μειώνει τη σύνθεση του κολλαγόνου. Εμπλέκεται και στη φυσιολογική αγγειογένεση, αν και η απουσία του δεν την επηρεάζει αρνητικά εφόσον πειραματόζωα με ανεπάρκεια b-FGF αναπτύσσονται φυσιολογικά[24].

Ο b-FGF ακόμη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση που ακολουθεί κάποια ιστική βλάβη, την εναπόθεση κοκκιώδους ιστού, την αποκατάσταση της βλάβης σε φλεγμονώδεις καταστάσεις και τη βιολογική συμπεριφορά πολλών και διαφορετικών τύπων κακοήθειας[24]. Αύξηση του b-FGF των ιστών διαπιστώθηκε σε χρόνιες φλεγμονώδεις και κοκκιωματώδεις νόσους όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η σαρκοείδωση. Επίσης ανιχνεύθηκε στο φυσιολογικό λεπτό και παχύ έντερο και στον καρκίνο του εντέρου. Διαπιστώθηκε επίσης ότι προάγει την αποκατάσταση της βλάβης του βλεννογόνου του εντέρου μετά την καταστροφή του όπως και την επούλωση του πεπτικού έλκους σε πειραματόζωα[25]. Οι Szabo et al. απέδειξαν ότι η χορήγηση από το στόμα ενός παραγώγου του b-FGF σε ποντίκια με δωδεκαδακτυλικό έλκος οδήγησε σε πλήρη ίαση των ελκών στο 62% των περιπτώσεων με σημαντική αύξηση του αριθμού των αιμοφόρων αγγείων στην κοίτη του έλκους χωρίς την ταυτόχρονη χορήγηση αντιελκωτικών παραγόντων. Επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι η σουκραλφάτη επιταχύνει την επούλωση του έλκους μέσω της σύνδεσής της με τον b-FGF και την τοπική αύξηση της συγκέντρωσής του στο βλεννογόνο του δωδεκαδακτύλου.

Σε πάσχοντες με ΙΦΕΝ έχουν παρατηρηθεί σημαντικά αυξημένα επίπεδα b-FGF στον ορό σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό. Παρατηρήθηκαν επίσης αυξημένα επίπεδα b-FGF σε ιστούς πασχόντων με ενεργό ΙΦΕΝ σε σχέση με ασθενείς χωρίς ενεργό νόσο. Ίσως η τοπική απελευθέρωση b-FGF λόγω βλάβης του ενδοθηλιακού κυττάρου προάγει τη διαδικασία της ιστικής αναγέννησης και επούλωσης, όμως η μακροχρόνια απελευθέρωση του από τους φλεγμονώδεις ιστούς ίσως να οδηγεί στην υπέρμετρη ανάπτυξη ινώδους ιστού[23].

Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (Epidermal Growth Factor, EGF)

Ο EGF συντίθεται και εκκρίνεται κυρίως από τους σιελογόνους αδένες, αλλά και τα κύτταρα του βλεννογόνου που βρίσκονται κοντά σε ελκωτική βλάβη και προάγει τον πολλαπλασιασμό του επιθηλίου και την αποκατάσταση της βλάβης. Η αφαίρεση των σιελογόνων αδένων καθυστερεί την επούλωση του πεπτικού έλκους σε πειραματόζωα, ενώ η υποδόρια χορήγηση EGF επαναφέρει πλήρως τη διαδικασία επούλωσης. Επίσης ο EGF αυξάνει την έκκριση του VEGF και την έκφραση του VEGF-mRNA σε κυτταροκαλλιέργειες. Επιπλέον είναι ένας δυνητικά μιτογόνος παράγοντας που ενισχύει τη σύνθεση του DNA και RNA, προάγοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό.

Τα επίπεδα του EGF στο αίμα είναι χαμηλά σε φυσιολογικές συνθήκες, ωστόσο η εμφάνιση ενός έλκους αυξάνει δραματικά τα επίπεδα του στους σιελογόνους αδένες και στον ορό μέσα σε μία μέρα αποδεικνύοντας έτσι ότι η βλεννογόνια βλάβη ίσως να οδηγεί στη σύνθεση και έκκριση του από τους σιελογόνους αδένες[26].

Αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού α (Transforming Growth Factor α, TGF-α)

Ο TGF-α είναι ένα μιτογόνο πολυπεπτίδιο ομόλογο δομικά και λειτουργικά με τον EGF και συντίθεται ως διαμεμβρανική πρωτεΐνη 160 αμινοξέων, ενώ η ώριμη μορφή της είναι ένα πολυπεπτίδιο 50 αμινοξέων. Συνδέεται με τον ίδιο υποδοχέα με τον EGF και προκαλεί την τυροσινική φωσφορυλίωση του προάγοντας έτσι τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό.

Υπάρχουν άμεσες ενδείξεις ότι ο TGF-α ενισχύει τον πολλαπλασιασμό του επιθηλίου του παχέος εντέρου του ανθρώπου. Έχει ταυτοποιηθεί επίσης σε μεταλλαγμένες κυτταρικές σειρές, καρκινικούς ιστούς και φυσιολογικά κύτταρα όπως κερατινοκύτταρα και ινοβλάστες. Άλλες πηγές TGF-α είναι κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος όπως τα μονοκύτταρα-μακροφάγα και τα ηωσινόφιλα.

Ο αριθμός των κυττάρων που περιέχουν TGF-α στον εντερικό βλεννογόνο είναι αυξημένος σε ασθενείς με ΕΚ τόσο κατά τη διάρκεια της ενεργού νόσου όσο και σε κλινική ύφεση. Πιθανώς η συνεχής παραγωγή TGF-α να ασκεί μιτογόνο δράση στα κύτταρα του βλεννογόνου και να αυξάνει κατ΄ αυτόν τον τρόπο τη πιθανότητα κακοήθους εξαλλαγής[27].

Αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού β (Transforming Growth Factor β, TGF-β)

Ο TGF-β είναι μία κυτταροκίνη που παράγεται κυρίως από κύτταρα που συμμετέχουν στην ανοσολογική απάντηση. Συμβάλλει σε πλήθος βιολογικών λειτουργιών όπως ο έλεγχος της διαφοροποίησης, του πολλαπλασιασμού και της ενεργοποίησης των ανοσολογικών κυττάρων και των ανοσολογικών διαταραχών που συνδέονται με τον καρκίνο, τα αυτοάνοσα νοσήματα, τις ευκαιριακές λοιμώξεις και την ίνωση[28].

Ο TGF-β διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην αποκατάσταση της βλάβης του επιθηλίου του εντέρου εφόσον οι περισσότερες κυτταροκίνες που προάγουν την αναδόμηση του βλεννογόνου ασκούν τη δράση τους μέσω μηχανισμού που εξαρτάται από αυτόν[29]. Σε in vivo μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι η ενδομυϊκή ένεση TGF-β-DNA και η τοπική χορήγηση TGF-β βελτιώνουν τη φλεγμονή του εντέρου και επιταχύνουν την επούλωση της βλάβης του βλεννογόνου.

Αύξηση του TGF-β έχει βρεθεί τοπικά στο βλεννογόνο πασχόντων με ΙΦΕΝ[30] και σε επιθηλιακές βλάβες του εντέρου σε πειραματόζωα, αποδεικνύοντας ότι ο TGF-β ίσως να σχετίζεται με τη ρύθμιση των ανοσολογικών μηχανισμών και της αποκατάστασης της βλάβης του εντέρου[29]. Οι Mark et al. ανέδειξαν ότι ο TGF-β εκφράζεται κυρίως στη βασική μεμβράνη του πάσχοντος βλεννογόνου σε περιπτώσεις ασθενών με ενεργό ΙΦΕΝ. Ωστόσο, παρά τις σημαντικές διαφορές στην τοπική ιστική έκφραση, δεν έχουν παρατηρηθεί σημαντικές διαφορές στα επίπεδα TGF-β στον ορό πασχόντων σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, ούτε μεταξύ ασθενών με ενεργό και ανενεργό νόσο[29]. Επιπλέον, οι Babyatsky et al. παρατήρησαν ότι η έλλειψη παραγωγής TGF-β στο έντερο αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης ΕΚ[31].

Αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από τα αιμοπετάλια (Platelet Derived Growth Factor, PDGF)

Ανακαλύφθηκε το 1974 από δύο ανεξάρτητες ομάδες των Ross et al. και των Kohler and Lipton και είναι γλυκοπρωτεΐνη που ανιχνεύεται στον ορό αλλά όχι στο πλάσμα του αίματος. Ο PDGF παράγεται από τα αιμοπετάλια, τα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών και τα κακοήθη κύτταρα.

Στα κύτταρα στόχους επάγει την παραγωγή των εικοσανοειδών και ιδιαίτερα των προσταγλανδινών PGI-2 και PGE-2, προκαλεί χημειοταξία ινοβλαστών και λείων μυϊκών ινών, βοηθά στην αποκατάσταση μιας ιστικής βλάβης, έχει μιτωτική δράση σε πολλά είδη κυττάρων και προκαλεί σύσπαση των λείων μυϊκών ινών των αγγείων. Είναι ο παράγοντας που ενοχοποιείται στην αιτιοπαθογένεια της πληκτροδακτυλίας[32,33].

Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από τα αιμοπετάλια (Platelet Derived Epidermal Growth Factor, PDEGF) ή Θυμιδιλική φωσφωρυλάση, TP

Το 1987 απομονώθηκε ένας καινούριος αγγειογενετικός παράγοντας, ο PDEGF. Πέντε χρόνια αργότερα αποδείχθηκε ότι πρόκειται για το γνωστό ενδοκυτταρικό ένζυμο τη Θυμιδιλική Φωσφορυλάση (TP). Η TP είναι ένα ένζυμο που καταβολίζει τη θυμιδίνη σε θυμίνη και 1-φωσφορική2-δεοξυουριδίνη. Τα επίπεδα έκφρασης της TP είναι χαμηλά σε φυσιολογικούς ιστούς αλλά πολύ υψηλά σε όγκους. Πολλές μελέτες απέδειξαν ότι η αυξημένη δραστηριότητα της σε όγκους είναι στενά συνδεδεμένη με υψηλή κακοήθεια, έντονη αγγειογένεση και φτωχή πρόγνωση. Ο μηχανισμός με τον οποίο δρα αγγειογενετικά στα ενδοθηλιακά κύτταρα παραμένει άγνωστος αλλά δε φαίνεται να είναι ένας κλασσικός μιτογόνος παράγοντας, αφού δεν απαιτείται για τη δράση της κάποιος υποδοχέας της κυτταρικής μεμβράνης. Οι παράγοντες που εκκρίνονται από τα καρκινικά κύτταρα δρουν άμεσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ωστόσο η TP δεν εκκρίνεται αλλά παραμένει μέσα στο καρκινικό κύτταρο και έχει προταθεί ότι πιθανώς να προκαλεί οξειδωτικό στρες στα καρκινικά κύτταρα και τα αναγκάζει να εκκρίνουν αγγειογενετικούς παράγοντες όπως η IL-8, ο VEGF και η MMP-1 που με τη σειρά τους προάγουν άμεσα την αγγειογένεση. Από την άλλη πλευρά, ο TNF-α, η IL-1α και η IFN-γ προκαλούν αυξημένη παραγωγή TP σε καρκινικές σειρές.

Πέρα από το υψηλό επίπεδο έκφρασης σε κακοήθεις όγκους η TP εκφράζεται και σε φλεγμονώδεις ιστούς, όπως στη ρευματοειδή αρθρίτιδα και την ψωρίαση όπου θεωρείται ότι παίζει ρόλο στην αγγειογένεση. Ο ρόλος της στις ΙΦΕΝ είναι ασαφής, εκφράζεται σε κύτταρα του στρώματος όπως μακροφάγα και ινοβλάστες του εντερικού βλεννογόνου σε πάσχοντες με ΙΦΕΝ και ο βαθμός έκφρασής της είναι ανάλογος με το βαθμό της φλεγμονής. Αντίθετα, στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων του φυσιολογικού βλεννογόνου δεν παρατηρείται δραστηριότητα της TP[34,35].

Μεταλλοπρωτεϊνάσες της μεσοκυττάριας ουσίας (Matrix Metalloproteinases, MMPs)

Οι MMPs ανήκουν σε μεγάλη ομάδα ενζύμων που αποδομεί την εξωκυττάρια ουσία και τα συστατικά της βασικής μεμβράνης. Τουλάχιστον 17 ένζυμα έχουν ταυτοποιηθεί και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, την αναδόμηση των ιστών, την επέκταση του όγκου και την αγγειογένεση. Οι MMPs διαφέρουν γενετικά και είναι ταξινομημένες με βάση το υπόστρωμα που δρουν και τη δομή τους σε υποομάδες, όπως κολλαγενάσες, ζελατινάσες, στρωματολυσίνες και μεμβρανικού τύπου MMPs. Η έκφραση των περισσότερων ρυθμίζεται από ποικιλία κυτταροκινών και παραγόντων ανάπτυξης. Οι MMPs, όπως προκύπτει από τεχνικές mRNA in situ υβριδισμού, παράγονται από ινοβλάστες του στρώματος, λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων και περικύτταρα αλλά και φλεγμονώδη κύτταρα των όγκων, όπως μακροφάγα και πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα. Εκκρίνονται ως αδρανείς πρόδρομες ουσίες και ενεργοποιούνται σε πρωτεολυτικά ένζυμα στον εξωκυττάριο χώρο ή την κυτταρική μεμβράνη. Η δράση τους ελέγχεται από μηχανισμούς ενεργοποίησης και από ειδικούς (TIMPs 1-4) και μη ειδικούς (α2 μακροσφαιρίνη) αναστολείς. Η συνεχής αρνητική ρύθμιση σε μερικά νοσήματα αναστέλλεται, η δράση τους αυξάνει και αυτό επιτρέπει τη δημιουργία νέων ιστών και αγγείων.

Οι MMPs αποδομούν την εξωκυττάρια ουσία προάγοντας την εισβολή των όγκων, τις μεταστάσεις και τις ιστικές βλάβες σε φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα. Στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια ο ρόλος των MMPs είναι συνδεδεμένος με τη διαδικασία της αγγειογένεσης, ενώ στον καρκίνο και τη ρευματοειδή αρθρίτιδα η δραστηριότητα τους είναι αναπόσπαστο κομμάτι της ιστικής αναμόρφωσης και του σχηματισμού νέων αιμοφόρων αγγείων. Ειδικά στους όγκους, η υπερπαραγωγή των MMPs πιθανώς είναι υπεύθυνη για αυξημένη διηθητική ανάπτυξη και η έκφρασή τους πιθανώς έχει προγνωστική αξία.

Σε πρόσφατες μελέτες αναφέρονται αυξημένα επίπεδα MMPs σε περιοχές του εντέρου ασθενών με ΙΦΕΝ. Οι MMP-1 και MMP-13 εμπλέκονται στην επουλωτική διαδικασία που πραγματοποιείται στην βάση ενός έλκους ενώ οι MMP-7 και MMP-10 παίζουν σημαντικό ρόλο στην αναγέννηση του επιθηλίου. Η MMP-12 σχετίζεται με την κινητικότητα των μακροφάγων και την απόπτωση του επιθηλίου. Η MMP-9 διευκολύνει την εξαγγείωση των λευκών αιμοσφαιρίων και τη διήθηση των πρωτεϊνών του ορού στους ιστούς ενώ αυξάνει τοπικά στις φλεγμονώδεις βλάβες του βλεννογόνου ασθενών με ΙΦΕΝ. Η MMP-3 ανιχνεύθηκε στη βασική μεμβράνη ενώ η παρουσία της MMP-8 αναφέρθηκε σε ουδετερόφιλα, της MMP-9 σε μακροφάγα και των MMP-1 και MMP-3 σε ινοβλάστες. Επιπλέον η παραγωγή των MMP-1, MMP–3, MMP-8 και MMP-9 ήταν σημαντικά αυξημένη σε περιοχές με βλεννογόνια βλάβη σε σχέση με τους φυσιολογικούς ιστούς. Σε περιοχές με ίνωση παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη μείωση των MMP-1, MMP-3, MMP-8 και MMP-9. Από τις παρατηρήσεις αυτές συνάγεται ότι μια διαταραχή της ισορροπίας ανάμεσα στη σύνθεση και την αποδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας που εμπλέκονται οι MMPs, μπορεί να οδηγήσει είτε σε υπερβολική καταστροφή ιστού και σχηματισμό έλκους είτε σε υπερβολική εναπόθεση κολλαγόνου και ίνωση[6-39].

Συμπερασματικά λοιπόν, οι MMPs που απελευθερώνονται ως απάντηση σε φλεγμονώδη ερεθίσματα ίσως παίζουν σημαντικό ρόλο στην ιστική καταστροφή σε ασθενείς με ΙΦΕΝ και επομένως θεραπευτικός χειρισμός τους θα μπορούσε να αναστείλει τη χρόνια φλεγμονή, να επιταχύνει την επούλωση των ελκών και να προλάβει την ίνωση.

Αυξητικός παράγοντας των ηπατοκυττάρων (Hepatocyte Growth Factor, HGF)

Ο HGF παράγεται από μονοκύτταρα, αιμοπετάλια, ινοβλάστες, λεία μυϊκά κύτταρα, μαστοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα αλλά όχι από τα επιθηλιακά κύτταρα. Έκφραση του υποδοχέα του έχει διαπιστωθεί κυρίως στα επιθηλιακά κύτταρα του στομάχου, του λεπτού και του παχέος εντέρου υποδεικνύοντας έτσι ότι πιθανώς να παράγεται από τα κύτταρα του στρώματος και να δρα κυρίως με παρακρινικό τρόπο στα επιθηλιακά κύτταρα. Ο HGF προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη μορφογένεση των επιθηλιακών κυττάρων και των ηπατοκυττάρων.

Αυξημένη έκφραση του HGF έχει παρατηρηθεί στον υποβλεννογόνιο, μυϊκό και ορογόνο χιτώνα του στομάχου μετά από οξεία βλάβη του βλεννογόνου σε πειραματόζωα. Επιπλέον έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα HGF τοπικά στον βλεννογόνο πασχόντων με ΙΦΕΝ και σε ποντίκια μετά την πρόκληση πειραματικής κολίτιδας. Σε μία μελέτη με πειραματικά μοντέλα αρουραίων με ΙΦΕΝ, η χορήγηση του HGF περιόρισε τη διάρροια και την εντερική φλεγμονή. Τα παραπάνω συνηγορούν στο ότι ο HGF παίζει σημαντικό ρόλο στη μορφογένεση του γαστρεντερικού συστήματος και στην αναγέννηση των ιστών σε περιπτώσεις εντερικής φλεγμονής. Ωστόσο, δεν έχουν παρατηρηθεί σημαντικές διαφορές στα επίπεδα HGF του ορού ανάμεσα σε πάσχοντες από ενεργό ή ανενεργό ΙΦΕΝ και τους υγιείς μάρτυρες[29].

Ιντερλευκίνες (Interleukins, ILs)

Τα εξωγενή αντιγόνα προάγουν την παραγωγή ποικίλων κυτταροκινών από το εντερικό επιθήλιο, όπως οι Ιντερλευκίνες και ο Παράγοντας Νέκρωσης των Όγκων (TNF). Τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα και τα επιθηλιακά κύτταρα παράγουν τις παραπάνω κυτταροκίνες που οδηγούν σε ενεργοποίηση των μορίων προσκόλλησης των επιθηλιακών κυττάρων, με επακόλουθη ενεργοποίηση και μετανάστευση φλεγμονωδών κυττάρων από την κυκλοφορία στους ιστούς όπου απελευθερώνουν με τη σειρά τους ουσίες που επεκτείνουν την ιστική βλάβη. Τα παραπάνω γεγονότα έχουν σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός ανοσολογικού φαύλου κύκλου[40].

Παρόλο που η παθογένεια των ΙΦΕΝ παραμένει γενικώς άγνωστη, οι παραπάνω κυτταροκίνες ενισχύουν τη φλεγμονή και την ιστική βλάβη εξαιτίας της ενεργοποίησης και της χημειοτακτικής δράσης που ασκούν στα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα. Σε πολλές μελέτες έχουν παρατηρηθεί διαταραχές στα επίπεδα των διαφόρων ιντερλευκινών σε ασθενείς με ΙΦΕΝ με διαφορετικό μηχανισμό σε ΕΚ και ΝC.

Σε πάσχοντες με ΝC παρατηρείται μια πρώιμη αύξηση της έκφρασης INF, IL-2 και IL-12 ακολουθούμενη από αύξηση σε TNF-a και IL-18 ενώ φαίνεται να υπάρχει και μια αντισταθμιστική αύξηση IL-10 και TGF-b[41]. Επιπλέον, αυξημένα επίπεδα IL-6 παρατηρήθηκαν στον ορό πασχόντων με ενεργό ΝC[42]. Επίσης τα αυξημένα επίπεδα της IL-1β στον ορό πασχόντων από ΝC προηγούνται των υποτροπών της νόσου, υποδηλώνοντας ότι η υπερπαραγωγή της ίσως οδηγεί άμεσα στην εμφάνιση των συμπτωμάτων[43]. Όμως ο ρόλος της IL-1β στην εντερική φλεγμονή εξαρτάται από τα επίπεδά της και από τα επίπεδα του φυσικού της αναστολέα (ανταγωνιστής υποδοχέα). Η μεταξύ τους ισορροπία επηρεάζει την έκβαση της νόσου ενώ η χορήγηση του αναστολέα μειώνει τη σοβαρότητα της νόσου σε πειραματικά μοντέλα με εντερική φλεγμονή[44].

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν αυξημένη έκφραση IL-18 τοπικά σε ΝC που επιβεβαιώνουν το σημαντικό ρόλο της IL-18 στην εντερική φλεγμονή[44]. Οι Nakamure et al. επίσης επιβεβαίωσαν τη συνεργική δράση των IL-18 και IL-12 σε πειραματόζωα που οδηγεί σε σοβαρή κολίτιδα και υψηλή θνητότητα[45]. Σε πάσχοντες με ΕΚ παρατηρείται μια αύξηση της έκφρασης IL-5, IL-6, IL-10 και IL-13[41]. Στην ΕΚ η συγκέντρωση στον εντερικό βλεννογόνο των προφλεγμονωδών ιντελευκινών IL-1, IL-6, IL-8 αλλά και του TNF στην πάσχουσα περιοχή φαίνεται ότι συσχετίζεται με τη σοβαρότητα της νόσου[40].

Επίσης, τα κύτταρα του βλεννογόνου του εντέρου σε πάσχοντες από ΙΦΕΝ εκκρίνουν μεγαλύτερες ποσότητες IL-6, IL-8 σε σχέση με το φυσιολογικό βλεννογόνο. Σε πρόσφατες μελέτες παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση IL-8 στον εντερικό βλεννογόνο πασχόντων με ΙΦΕΝ και ιδιαίτερα σε περιοχές με ενεργό ΕΚ και η αύξηση αυτή φαίνεται ότι σχετίζεται με την έκταση της διήθησης από ουδετερόφιλα[46]. Η πλειοψηφία των μελετών αναφέρει αυξημένη παραγωγή IL-8 σε βλεννογόνο πασχόντων με ενεργό νόσο σε σχέση με μη ενεργό, όσο και σε πάσχοντες σε ύφεση σε σχέση με φυσιολογικούς μάρτυρες. Έχει επίσης αναφερθεί αύξηση σε ασθενείς με ΙΦΕΝ σε σχέση με πάσχοντες από ευερέθιστο έντερο. Αυξημένη παραγωγή της IL-12 έχει βρεθεί επίσης σε ασθενείς με ΙΦΕΝ ιδιαίτερα σε ενεργό νόσο και ίσως να συνδέεται με την ενίσχυση της φλεγμονής. Επιπλέον η παραγωγή IL-17 είναι αυξημένη σε ασθενείς με ενεργό ΝC και ΕΚ και συνδέεται με τη δραστηριότητα της νόσου. Είναι γνωστό ότι οι IL-12 και IL-17 μόνες ή σε συνδυασμό με άλλες κυτταροκίνες προκαλούν την παραγωγή ποικίλων άλλων προφλεγμονωδών ουσιών όπως IL-6, IL-8 και TNF-a που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη φλεγμονή.

Η IL-10 είναι κυτταροκίνη που αναστέλλει τόσο την παρουσίαση του αντιγόνου όσο και την επακόλουθη απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και προτείνεται ως αντιφλεγμονώδης βιολογική θεραπεία σε ασθενείς με ΙΦΕΝ. Η χρήση της IL-10 και των νέων παρόμοιων με αυτή κυτταροκινών όπως των IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, IL-29 ίσως δώσει νέες προοπτικές στη θεραπεία των ΙΦΕΝ στο άμεσο μέλλον[41].

Παράγοντας Νέκρωσης των Όγκων (Tumor Necrosis Factor, TNF)

Ο TNF δυνητικά μπορεί να προκαλέσει τον πολλαπλασιασμό αλλά και το θάνατο των μεταλλαγμένων κυττάρων μετά τη σύνδεσή του με μέλη της οικογένειας των υποδοχέων TNF-R1 και TNF-R2. Ο κυτταρικός θάνατος, η μεταγραφή μεταλλαγμένων γόνων και η παραγωγή άλλων κυτταροκινών απαιτούν τη διαμεσολάβηση του TNF-R1. Αντίθετα, η σύνδεση με τον TNF-R2 προάγει είτε ανεξάρτητα είτε σε συνεργασία με τον TNF-R1 τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυττάρων.

Ο TNF-α παράγεται από τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα Τ-κύτταρα και παίζει ρόλο κλειδί στη άμυνα του ξενιστή. Συμμετέχει σε πολλές λειτουργίες όπως η συσσώρευση των ουδετεροφίλων, ο σχηματισμός του κοκκιώματος, η υπερπαραγωγή μορίων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα, η αύξηση της εντερικής διαπερατότητας και η αγγειογένεση. Επίσης συμβάλλει στην πρόκληση της βλάβης των ιστών σε φλεγμονώδη νοσήματα και ενισχύει την αντίδραση της οξείας φάσης προάγοντας τη παραγωγή IL-1β και IL-6.

Έχουν παρατηρηθεί αυξημένες συγκεντρώσεις TNF-α τοπικά στο βλεννογόνο του εντέρου ασθενών με ΙΦΕΝ. Οι συγκεντρώσεις του στον ορό είναι σημαντικά υψηλότερες σε ενεργό νόσο σε σχέση με ανενεργό και σε ανενεργό νόσο σε σχέση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες, αν και κυμαίνονται σε χαμηλά επίπεδα. Τα αυξημένα επίπεδα του TNF-α στον ορό των ασθενών με ΝC έχει βρεθεί ότι προηγούνται των υποτροπών και ίσως η υπερπαραγωγή του οδηγεί άμεσα στην ανάπτυξη των συμπτωμάτων. Επίσης, έχουν διαπιστωθεί αυξημένα επίπεδα TNF-α στα κόπρανα ασθενών με ενεργό ΝC σε σχέση με τους υγιείς. Από την άλλη μεριά έχει επίσης παρατηρηθεί ότι η παραγωγή του TNF-α στον εντερικό βλεννογόνο είναι περισσότερο αυξημένη σε πάσχοντες με ΝC σε σχέση με ΕΚ. Το γεγονός ότι ο TNF-α κατέχει κεντρικό ρόλο στη φλεγμονώδη διαδικασία ιδιαίτερα σε ασθενείς με ΝC ενισχύεται και από τις κλινικές μελέτες με τη χρήση των αντί-TNF παραγόντων που αποδείχτηκαν ιδιαίτερα αποτελεσματικοί στα δύο τρίτα τουλάχιστον των πασχόντων με κορτικοεξαρτώμενη χρόνια ενεργό ΝC[47,48].

Αγγειογενίνη (Angiogenin)

Η αγγειογενίνη κυκλοφορεί φυσιολογικά στο ανθρώπινο πλάσμα σε συγκεντρώσεις από 250 έως 360 ng/ml. Επάγει τη διαδικασία της αγγειογένεσης με ένα σύνθετο μηχανισμό σχηματισμού αιμοφόρων αγγείων που περιλαμβάνει ξεχωριστά αλλά αλληλοσυνδεόμενα βήματα σε κυτταρικό και βιοχημικό επίπεδο όπως:

1) την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων μέσω της δράσης ενός αγγειογενετικού ερεθίσματος,
2) την εισβολή των ενεργοποιημένων ενδοθηλιακών κυττάρων στους ιστούς και τη μετανάστευση τους προς την πηγή του ερεθίσματος,
3) τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων για να σχηματίσουν μια νέα μικροκυκλοφορία.

Η αγγειογενίνη προωθεί την πυρηνική μεταγραφή στα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω υποδοχέα που αντιστοιχεί σε μια πρωτεΐνη επιφανείας 170 kDa και εκφράζεται κάτω από ειδικές συνθήκες στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Στη συνέχεια σε συνεργασία με την ακτίνη επηρεάζουν ειδικές κυτταρικές λειτουργίες στα διάφορα στάδια της αγγειογένεσης. Σε φυσιολογικές συνθήκες, η κυκλοφορούσα αγγειογενίνη βρίσκεται υπό συνεχή έλεγχο για την αποτροπή ανεπιθύμητης αγγειογένεσης[49].

Ερυθροποιητίνη (Erythropoietin, EPO)

Ο ρόλος της EPO στη διαδικασία της αγγειογένεσης δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν υποδοχέα EPO και η πολυδύναμη αυτή κυτταροκίνη προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων και ενισχύει την αγγειογένεση σε in vitro και in vivo μελέτες με πειραματόζωα. Η ανασυνδυασμένη ανθρώπινη EPO (rhEPO) φαίνεται ότι επάγει έναν προαγγειογενετικό φαινότυπο σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα, με πρώιμα (π.χ. αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και παραγωγή MMP-2) όσο και όψιμα (διαφοροποίηση σε αγγειακούς σωλήνες) αγγειογενετικά αποτελέσματα[50].

Σε συμπαγείς όγκους η έκφραση των υποδοχέων της EPO συνδυάζεται με αύξηση της αγγειογενετικής δραστηριότητας και παράλληλη αύξηση του βαθμού κακοήθειας. Η EPO πιθανώς βοηθάει στην ανάπτυξη των αγγείων κατά τη διάρκεια της αύξησης του όγκου μέσω παρακρινούς ή αυτοκρινούς οδού και με τον τρόπο αυτό συμβάλλει στην επιβίωση των υποξικών όγκων. Η υποξία από την άλλη επάγει τη μεταγραφή του γονιδίου της EPO που με τη σειρά της σχετίζεται με αυξημένη έκφραση του VEGF και αύξηση της αγγειογενετικής δραστηριότητας[50]. Η ενδογενής EPO βρέθηκε αυξημένη στον ορό ασθενών με ΙΦΕΝ σε σχέση με υγιείς ανεξάρτητα από την ενεργότητα της νόσου[51].

Παράγοντας επαγόμενος από την υποξία (Hypoxia Inducible Factor, HIF-1)

Ο HIF-1 είναι ένας οξυγονοεξαρτώμενος μεταγραφικός πρωτεϊνικός παράγοντας που παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξη των θηλαστικών και την αγγειογένεση των όγκων. Είναι ετεροδιμερές και αποτελείται πάντα από μία υπομονάδα HIF-1β και μία από τις υπομονάδες HIF-1a, HIF-2a, HIF-3a. Η σταθερότητα και η δραστηριότητα της υπομονάδας HIF-1a καθορίζονται από την ενδοκυτταρική συγκέντρωση οξυγόνου. Σε καταστάσεις με φυσιολογικό οξυγόνο η υπομονάδα HIF-1a γρήγορα αποδομείται ενώ στην υποξία γίνεται σταθερή και αλληλεπιδρά με ποικίλους άλλους παράγοντες ρυθμίζοντας τη μεταγραφική δραστηριότητα. Τα γονίδια στα οποία στοχεύει σχετίζονται με την αύξηση της αγγειογένεσης, την επιβίωση των κυττάρων, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, το μεταβολισμό της γλυκόζης και του σιδήρου και την αντοχή στα φάρμακα. Συνδέεται επίσης με διαδικασίες που προάγουν την ογκογένεση. Πειραματικές μελέτες απέδειξαν ότι ποντίκια με έλλειψη του HIF-1a παρουσίασαν εμβρυϊκή θνητότητα με παλινδρόμηση των αγγείων, ενώ μοντέλα ζώων με υπερπαραγωγή HIF-1a παρουσίασαν αυξημένη παροχή αίματος λόγω αγγειογένεσης σε ισχαιμικές περιοχές. Τα ποντίκια με υπερέκφραση του HIF-1a αποκτούν αυξημένο αριθμό αγγείων χωρίς αυτά να παρουσιάζουν υπερβολική διαπερατότητα όπως παρατηρήθηκε σε ποντίκια με υπερέκφραση του VEGF. Ο υποκείμενος μηχανισμός για τη διαφορά αυτή στην ποιότητα της αγγείωσης δεν είναι κατανοητός. Έχει αποδειχτεί επίσης ότι ο HIF-1 μεσολαβεί στην αγγειογενετική απόκριση στην υποξία ενεργοποιώντας τη μεταγραφή γονιδίων για τον VEGF και για το σύστημα αγγειοποιητίνη/Tie-2. Η ενεργοποίηση του συστήματος αυτού από τον HIF-1 ίσως εξηγεί τη διαφορά στην ποιότητα της αγγείωσης που προκύπτει από υπερέκφραση VEGF ή HIF-1a[52].

Αγγειοποιητίνες (Angiopoietins, Ang)

Το σύμπλεγμα της αγγειοποιητίνης με τον υποδοχέα της Tie-2 φαίνεται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις ρυθμίζοντας την ομοιόσταση, την ωρίμανση και την αναδιοργάνωση του αγγειακού δικτύου. Έχουν ταυτοποιηθεί δύο είδη υποδοχέων αγγειοποιητίνης, ο Tie-1 και ο Tie-2, με μεγάλη ομολογία αμινοξέων μεταξύ τους και εκφράζονται κυρίως από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Έχουν ταυτοποιηθεί επίσης τέσσερα είδη αγγειοποιητίνης που συνδέονται με τον υποδοχέα Tie-2, η Ang-1, η Ang-2, η Ang-3, και η Ang-4, από τα οποία έχουν μελετηθεί περισσότερο οι Ang-1 και Ang-2 οι οποίες συνδέονται με τον υποδοχέα με παρόμοια συγγένεια.

Η Ang-1 εκφράζεται κυρίως από τα περικύτταρα, τους ινοβλάστες και τα λεία μυϊκά κύτταρα και δρα στα ενδοθηλιακά κύτταρα με παρακρινικό τρόπο. Κατά τη σύνδεσή της με τον υποδοχέα, αυτός αυτοφωσφορυλιώνεται και προάγει τη μετανάστευση και επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Ποντίκια με ανεπάρκεια Ang-1 και Tie-2 έχουν φαινότυπους που χαρακτηρίζονται από εμβρυϊκή θνητότητα με σοβαρές διαταραχές στο σχηματισμό και την ωρίμανση των αγγείων.

Η Ang-2 παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα μετά από κατάλληλη ενεργοποίηση τους και η δράση της στα κύτταρα αυτά ποικίλλει σημαντικά ανάλογα με το εάν δρα με αυτοκρινή ή παρακρινή τρόπο. Η Ang-2 δεν είναι ικανή να επάγει την αυτοφωσφορυλίωση του Tie-2, αντίθετα φαίνεται να δρα ως φυσικός ανταγωνιστής της Ang-1 όπως προέκυψε από την παρατήρηση σε πειραματόζωα με υπερπαραγωγή Ang-2. Κυρίως δρα ως αποσταθεροποιητής των συνάψεων μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων και των περικυττάρων και προάγει την αγγειογένεση με την παρουσία ενεργοποιητών όπως ο VEGF ενώ την καταστέλλει επί απουσίας τους. Έτσι οι Ang-1 και Ang-2 δεν έχουν πάντα αντίθετες δράσεις στον Tie-2 υποδοχέα αλλά κάτω από ορισμένες συνθήκες η Ang-2 είναι ικανή να τον ενεργοποιήσει και να επάγει την αγγειογένεση. Η μηχανιστική βάση των αντίθετων αυτών δράσεων παραμένει άγνωστη και ίσως τελικά οι διαφορετικές δράσεις των Ang-1 και Ang-2 να μην οφείλονται στον τρόπο σύνδεσης με τον υποδοχέα αλλά σε άλλους παράγοντες πιθανώς σχετικούς με το κύτταρο-στόχο. Υπερπαραγωγή της Ang-2 έχει αναφερθεί κατά τη διάρκεια παθολογικής αγγειογένεσης και κυρίως σε όγκους.

Η αγγειοποιητίνη και ο Tie-2 εκφράζονται σε πλήθος συμπαγών όγκων όπως ο καρκίνος του προστάτη, το γλοίωμα του εγκεφάλου, το γαστρικό καρκίνωμα, ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα και ο καρκίνος του μαστού με προγνωστική αξία σε κάποιες από αυτές τις καταστάσεις[53].

Ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας και αυξητική ορμόνη (Insulin-like Growth Factor and Growth Hormone , IGF και GH)

Σε συνθήκες αυξημένου καταβολισμού όπως σε τραύμα, έγκαυμα, ενδοτοξιναιμία και φλεγμονή παρατηρείται επίκτητη αντοχή στην GH και ένα σταθερό εύρημα σ' αυτές τις συνθήκες είναι η μειωμένη IGF-1 παρά τη φυσιολογική ή αυξημένη έκκριση GH. Ο λόγος της μείωσης είναι ασαφής. Φυσιολογικά η κυκλοφορούσα IGF παράγεται κυρίως από το ήπαρ κάτω από την άμεση δράση της GH και ασκεί αναβολικές δράσεις σε ποικίλους περιφερικούς ιστούς. Η πρωτεΐνη με την οποία συνδέεται, η IGFBP-3, παράγεται στο ήπαρ υπό τον έλεγχο της GH και έτσι τα κυκλοφορούντα επίπεδα των IGF-1 και IGFBP-3 είναι καλοί δείκτες της περιφερικής δράσης της GH.

Λίγες μελέτες έχουν μελετήσει την IGF σε παιδιά και εφήβους με ΙΦΕΝ και παρατήρησαν γενικά χαμηλά επίπεδα IGF-1 παρά τη φυσι-

ολογική ή αυξημένη σύγχρονη έκκριση GH. Τα ευρήματα αυτά μπορούν να εξηγήσουν την καθυστερημένη ανάπτυξη που συχνά αποτελεί εξωεντερική εκδήλωση παιδιών με ΙΦΕΝ. Με δεδομένο όμως ότι εκτός από τη GH, η IGF-1 ελέγχεται και από άλλους παράγοντες όπως η νηστεία και η διατροφική κατάσταση, προτάθηκε ότι ο υποσιτισμός ίσως να συμβάλλει μερικώς σε χαμηλή IGF-1 και καθυστέρηση της ανάπτυξης χωρίς όμως να ικανοποιεί πλήρως ως εξήγηση.

Σε μελέτες με ενήλικες πάσχοντες με ΙΦΕΝ και ικανοποιητική διατροφική κατάσταση τα κυκλοφορούντα επίπεδα της IGF-1 και της πρωτεΐνης IGFBP-3 ήταν επίσης μειωμένα. Τα χαμηλά επίπεδα της IGF-1 έχει προταθεί ότι μπορεί να οφείλονται σε άμεση ανάστροφη δράση των κυκλοφορούντων φλεγμονωδών κυτταροκινών. Όμως ο μηχανισμός μέσω του οποίου οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες προκαλούν επίκτητη αντοχή GH, οδηγώντας σε χαμηλά IGF-1 επίπεδα δεν είναι σαφής. Ίσως οι κυτταροκίνες δρουν άμεσα σε ηπατοκυτταρικό επίπεδο. Η αναστολή των αναβολικών δράσεων των GH και IGF-1 κάτω από τις συνθήκες καταβολισμού που επικρατούν στη φλεγμονή είναι ωφέλιμη για την επιβίωση του ατόμου. Ο μηχανισμός για τα χαμηλά επίπεδα IGFBP-3 ίσως είναι παρόμοιος με εκείνον για IGF-1, αφού η σύνθεση και των δύο πεπτιδίων ελέγχεται από τη GH.

Ο ρόλος της GH ως αγγειογενετικός παράγοντας αρχικά φάνηκε σε σχέση με τους μηχανισμούς ανάπτυξης της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Η αρχική υπόνοια προήλθε από την παρατήρηση ότι η νεοαγγείωση του αμφιβληστροειδή σε διαβητικούς ασθενείς μειώθηκε μετά από υποφυσεκτομή. Αν και θα μπορούσε η μείωση αυτή να οφείλεται στην απουσία άλλων ορμονών της υπόφυσης, ωστόσο ο ρόλος της GH υποστηρίχτηκε από τη σχέση ανάμεσα στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια και τα επίπεδα GH στην κυκλοφορία. In vitro και in vivo μελέτες επιβεβαίωσαν το ρόλο της GH ως αγγειογενετικού παράγοντα και απέδειξαν ότι ενισχύει τον πολλαπλασιασμό του ενδοθηλιακού κυττάρου.

Μεσολαβητές στη δράση της GH αποτελούν οι IGF-1 και IGF-2 που θεωρήθηκαν άμεσοι αγγειογενετικοί παράγοντες. Η δράση της GH στη νεοαγγείωση του αμφιβληστροειδή προωθείται μέσα από συστηματική ή τοπική παραγωγή των IGFs, η οποία ενισχύει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η παρουσία υποδοχέων IGF και το υπεύθυνο γονίδιο για την παραγωγή IGF έχει πιστοποιηθεί στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Παρόλο που πολλές μελέτες μαρτυρούν τον αγγειογενετικό ρόλο των GH και IGF, ωστόσο η δράση τους αυτή δε φαίνεται να είναι σταθερή. Επηρεάζεται ίσως από τα τοπικά ή τα κυκλοφορούντα επίπεδα, από τις ιδιαίτερες συνθήκες που επικρατούν στους ιστούς, από το είδος του ιστού και την παρουσία ή όχι υποδοχέων, από τα πειραματικά μοντέλα, από τη σύνθετη ενδοκρινολογική κατάσταση της νόσου και από άλλους τοπικούς και συστηματικούς παράγοντες[54].

Κυκλοοξυγενάσες, COX-1 και COX-2

Παρατηρούνται δύο ισομερή κυκλοοξυγενάσης, η COX-1 και η COX-2. Είναι ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος για την παραγωγή μιας σειράς προϊόντων όπως οι προσταγλανδίνες, οι λευκοτριένες και άλλα εικοσανοειδή[55]. Σε κυτταρικές σειρές έχει αποδειχθεί η σχέση τους με την ανάπτυξη, την εισβολή του όγκου και τις μεταστάσεις στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Σε πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες αποδείχθηκε ότι η χορήγηση COX-2 αναστολέων έχει ανασταλτικό αποτέλεσμα στην εμφάνιση του καρκίνου αυτού.

Η COX-1 εκφράζεται σε πολλούς ιστούς, κυρίως στο γαστρεντερικό σωλήνα, το ήπαρ, τα νεφρά και τα αιμοπετάλια, οδηγεί στη παραγωγή κυτταροπροστατευτικών και αντιφλεγμονωδών προσταγλανδινών και παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας του βλεννογόνου και τη συνοχή των κυττάρων. Η COX-2 εκφράζεται μόνο σε περιοχές φλεγμονής ως απόκριση σε προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες, κυρίως σε εγκέφαλο, αγγειακό ενδοθήλιο νεφρού, μήτρα και ωοθήκες. Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) αναστέλλουν τη σύνθεση των προσταγλανδινών μέσω και των δύο ισομερών[56].

Οι πειραματικές μελέτες των Seed and Tsujii καταδεικνύουν τη σχέση της COX-2 με την αγγειογένεση. Η COX-2 επάγει την αγγειογένεση του όγκου και σχετίζεται με την αιματογενή διασπορά, χωρίς όμως να έχει διευκρινισθεί ο ακριβής μηχανισμός. Φαίνεται όμως, όπως αποδείχτηκε σε in vitro μελέτες, ότι είναι απαραίτητη η παρουσία των ενδοθηλιακών κυττάρων που υπερεκκρίνουν COX-2, ενώ η αγγειογένεση αναστέλλεται με την προσθήκη εκλεκτικών COX-2 αναστολέων. Επίσης η COX-2 προάγει την παραγωγή των αγγειογενετικών παραγόντων VEGF και b-FGF και κατά συνέπεια προωθεί τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και το σχηματισμό νέων αγγείων[55].

Σε μελέτες έχει αποκαλυφθεί η παρουσία της COX-2 στο βλεννογόνο πασχόντων με ΙΦΕΝ. Οι Singer et al. απέδειξαν ότι η COX-1 παράγεται από τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα σε παρόμοια επίπεδα σε πάσχοντες με ΙΦΕΝ και υγιείς, ενώ η COX-2 δεν ανευρίσκεται σε φυσιολογικό βλεννογόνο, παρά μόνο σε βλεννογόνο εντέρου ασθενών με ΙΦΕΝ[57]. Επίσης οι Hendel and Nielsen απέδειξαν ότι οι πάσχοντες με ενεργό νόσο έχουν αυξημένα επίπεδα COX-2, ενώ τα επίπεδα της COX-1 δεν επηρεάζονται από τη δραστηριότητα της νόσου[58].

Λεπτίνη (Leptin)

Η λεπτίνη είναι μία πολυδύναμη ορμόνη με πολλαπλή επίδραση στην αγγειογένεση. Αφενός μεν επάγει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και αφετέρου αναστέλλει τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο και έτσι προάγει την αγγειογένεση, ωστόσο λίγα είναι γνωστά ως προς τους μηχανισμούς με τους οποίους αυτή προάγει την ενδοθηλιακή εισβολή και μετανάστευση. Η λεπτίνη ρυθμίζει την πρόσληψη τροφής, μεταβολικές και ενδοκρινικές απεκκρίσεις και παίζει ρυθμιστικό ρόλο στην αιμοποίηση, τη φλεγμονή και την ανοσολογική απόκριση. Τα επίπεδα λεπτίνης συσχετίζονται με την παχυσαρκία, την υπερινσουλιναιμία και την αντοχή στην ινσουλίνη σε πάσχοντες από μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη. Είναι από τους κυριότερους παράγοντες που δυνητικά συμβάλλουν στην ανάπτυξη των αγγειακών διαταραχών στο διαβήτη με ακραίο παράδειγμα τη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια.

Σε πάσχοντες με ΙΦΕΝ συχνά παρατηρείται κακή θρέψη και απώλεια βάρους. Δυνητικές αιτίες είναι η μειωμένη πρόσληψη τροφής, η αυξημένη ενεργειακή κατανάλωση και η μειωμένη απορρόφηση θρεπτικών συστατικών. Αιτίες της μειωμένης πρόσληψης τροφής είναι η ανορεξία, η αποφυγή τροφής λόγω των συμπτωμάτων (πόνος, ναυτία ή απόφραξη) και η επίδραση των φαρμάκων. Από αυτά, η ανορεξία είναι η πιο σημαντική αιτία[59].

Σε πειραματική μελέτη με ποντίκια φάνηκε ότι ίσως η ανορεξία που παρατηρείται σε ΙΦΕΝ οφείλεται στην αυξημένη παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως ο TNF-a, η IL-1 και η IL-6. Πρόσφατα προτάθηκε η λεπτίνη ως δυνητικός μεσολαβητής στην ανορεξία τη σχετική με ΙΦΕΝ. Σε στέρηση τροφής, η συγκέντρωση της στον ορό γρήγορα μειώνεται λόγω ενεργειακού ελλείμματος κι αυτή η μείωση οδηγεί σε μειωμένο βασικό μεταβολισμό, μειωμένη διάθεση και δραστηριότητα προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η απώλεια βάρους σώματος και αυξημένη αναζήτηση τροφής. Σε ένα πειραματικό μοντέλο ποντικών με ανεπάρκεια IL-2 και ΙΦΕΝ με αυξημένες προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες παρουσιάστηκε παράδοξη αύξηση της λεπτίνης μετά από στέρηση τροφής, δείχνοντας ότι στις ΙΦΕΝ η άμυνα της λεπτίνης ενάντια στη μείωση τροφής καταργείται και ίσως η λεπτίνη είναι μερικώς υπεύθυνη για την ανορεξία στα παραπάνω νοσήματα[60].

Αναστολείς της Αγγειογένεσης

Θρομβοσπονδίνες (Thrombospondins)

Οι θρομβοσπονδίνες ανήκουν σε μια οικογένεια πέντε γλυκοπρωτεϊνών που ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την προσκόλληση και τη μετανάστευση των κυττάρων και κατανέμονται ευρέως στον εξωκυττάριο χώρο πολλών ιστών. Δύο από τα μέλη της οικογένειας που ονομάζονται TSP-1 και TSP-2, είναι φυσιολογικοί αναστολείς της αγγειογένεσης.

Η TSP-1 είναι τριμερής γλυκοπρωτεΐνη 420-kDa που εκκρίνεται από μονοκύτταρα, μακροφάγα, ινοβλάστες, καρκινικά κύτταρα, ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων. Εκφράζεται σε ιστούς που βρίσκονται κοντά στα αγγεία, αλλά και στον ενδαγγειακό χώρο, τόσο στο πλάσμα όσο και στα μονοκύτταρα και τα κοκκία-α των αιμοπεταλίων. Η TSP-1 αλληλεπιδρά με το ενδοθήλιο με άγνωστο έως τώρα μηχανισμό παρόλο ότι αναγνωρίζει πολλούς υποδοχείς επιφανείας των ενδοθηλιακών κυττάρων και πιθανώς συνδέεται με μηχανισμούς τυροσινικής φωσφορυλίωσης. Τα αποτελέσματα της στην αγγειογένεση πραγματοποιούνται μέσω ρύθμισης του πολλαπλασιασμού, της προσκόλλησης και της μετανάστευσης των ενδοθηλιακών κυττάρων, του σχηματισμού τριχοειδών και της απόπτωσης. Η ικανότητά της να αλληλεπιδρά με ποικίλους υποδοχείς κυτταρικής επιφανείας αλλά και με ποικίλες στρωματικές πρωτεΐνες είναι υπεύθυνη για τις διαφορετικές και συχνά αντίθετες λειτουργίες της. Αντιφατικά ευρήματα προέκυψαν από μελέτες, σύμφωνα με τα οποία η TSP-1 μπορεί και δρα είτε ως ενεργοποιητής είτε ως αναστολέας της αγγειογένεσης κι αυτό ίσως οφείλεται σε διαφορές στην προέλευση και τα είδη των ενδοθηλιακών κυττάρων, καθώς και στις διαφορετικές θέσεις σύνδεσης και τα διαφορετικά πειραματικά μοντέλα. Αντιφατικός φάνηκε ο ρόλος της TSP-1 και στους όγκους, όπου προέκυψαν διαφορετικά αποτελέσματα ανάλογα με τον τύπο του καρκίνου, οδηγώντας άλλοτε σε επιδείνωση και άλλοτε σε αναστολή του όγκου[61].

Η TSP-2 έχει μεγάλη ομοιότητα στη δομή της με την TSP-1 και αλληλεπιδρά με μεγάλο αριθμό ίδιων υποδοχέων. Φαίνεται ότι επιδρά στη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού, της προσκόλλησης και της μετανάστευσης φυσιολογικών και μεταλλαγμένων κυττάρων. Στη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης αλλά και στον ενήλικα η TSP-2 εκφράζεται σε διαφορετικό χρόνο και σε διαφορετικούς τόπους από την TSP-1. Η έκφραση της TSP-2 προεξάρχει κυρίως σε περιοχές χονδρογένεσης, οστεογένεσης και σε ανώριμο συνδετικό ιστό και το γονίδιό της ρυθμίζεται από διαφορετικούς αυξητικούς παράγοντες και ορμόνες. Ωστόσο, όπως η TSP-1 έτσι και η TSP-2 εκφράζεται έντονα σε αιμοφόρα αγγεία υπό ανάπτυξη καταδεικνύοντας ένα δυνητικό ρόλο στη ρύθμιση της αγγειογένεσης[62].

Ενδοστατίνη (Endostatin)

Η ενδοστατίνη είναι καρβοξυ-τελικό κλάσμα του κολλαγόνου XVIII μοριακού βάρους 20-kDa και αναστέλλει την αγγειογένεση σε in vitro και in vivo μελέτες. Προκύπτει μετά από πρωτεολυτική διάσπαση του κολλαγόνου από πρωτεάσες και ανευρίσκεται στο αγγειακό τοίχωμα, τα αιμοπετάλια και ελεύθερη στο πλάσμα. Το μέσο επίπεδο της κυκλοφορούσας στο πλάσμα ενδοστατίνης στους υγιείς είναι 10-50 ng/ml.

Επηρεάζει τις λειτουργίες των ενδοθηλιακών κυττάρων, όπως τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την επιβίωσή τους και επιπλέον επιδρά στη δραστηριότητα των πρωτεϊνασών, τη διάσπαση των κυτταρικών συνάψεων και την αποδόμηση του ινώδους δικτύου της ακτίνης, ρυθμίζει τη δραστηριότητα του πλασμινογόνου και προκαλεί ταχύτατη μείωση της ενεργοποίησης πολλών γονιδίων σε αναπτυσσόμενα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Ο ρόλος της ενδοστατίνης στον καρκίνο δεν έχει αποσαφηνισθεί. Στον καρκίνο των ωοθηκών, η υψηλότερη έκφραση του γονιδίου της ενδοστατίνης σε σχέση με τις φυσιολογικές ωοθήκες σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση. Αντίθετα, στον ηπατοκυτταρικό καρκίνο η αυξημένη έκφραση του κολλαγόνου XVIII σχετίζεται με μικρότερο μέγεθος όγκου και καλύτερη πρόγνωση. Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα ενδοστατίνης στο πλάσμα ασθενών με προεμμηνοπαυσιακό καρκίνο του μαστού σχετίζονται με καλή πρόγνωση, ενώ το αντίθετο συμβαίνει στο σάρκωμα.

Πειραματόζωα με διαφορετικούς τύπους καρκίνου αντιμετωπίστηκαν με εγχύσεις ενδοστατίνης. Έπειτα από μερικούς κύκλους θεραπείας, ο αρχικός πρωτοπαθής όγκος σχεδόν εξαφανίσθηκε και τα πειραματόζωα δεν ανέπτυξαν ανοχή στην ενδοστατίνη μετά από επανάληψη της έγχυσης. Σε μελέτες με ποντίκια με ρευματοειδή αρθρίτιδα φάνηκε να περιορίζει την έκταση της νόσου ή να αναστέλλει την ανάπτυξή της μέσω αναστολής της αγγειογένεσης[63].

Αγγειοστατίνη (Angiostatin)

Η ανάπτυξη ενός συμπαγούς όγκου και οι μεταστάσεις βασίζονται στην αγγειογένεση και για το λόγο αυτό η μελέτη των αναστολέων της αγγειογένεσης αποτελεί ένα βήμα στη θεραπεία και τον έλεγχο του καρκίνου.

Η αγγειοστατίνη είναι προϊόν της αποδόμησης του πλασμινογόνου. Είναι ένας αναστολέας της αγγειογένεσης, τμήμα μεγαλύτερης μη αγγειογενετικής πρωτεΐνης. Ο ενζυμικός μηχανισμός και η διαδικασία διάσπασης του πλασμινογόνου σε αγγειοστατίνη δεν έχει πλήρως αποσαφηνισθεί. Όμως πρόσφατες μελέτες σε πειραματόζωα και καρκινικά κύτταρα ανθρώπου ανέδειξαν ότι η διαδικασία καταλύεται από μια πρωτεάση της σερίνης, μια μεταλλοελαστάση των μακροφάγων και την MMP-3.

Η ένεση φυσικής αγγειοστατίνης σε ποντίκια απέδειξε ότι υποστρέφει τους όγκους. Ωστόσο, δεν είναι γνωστοί οι μοριακοί μηχανισμοί με τους οποίους η αγγειοστατίνη ρυθμίζει τη συμπεριφορά του ενδοθηλιακού κυττάρου. Πρόσφατα έχει αναφερθεί ότι η αγγειοστατίνη λειτουργεί ως επαγωγέας της ενδοθηλιακής απόπτωσης καταργώντας την ικανότητα του ενδοθηλιακού κυττάρου να αντιστέκεται σε καταστάσεις με χαμηλή τάση οξυγόνου μειώνοντας έτσι την επιβίωση του[64].

Βαζοστατίνη (Vasostatin)

Η βαζοστατίνη είναι αμινοτελικό κλάσμα της ανθρώπινης calreticulin. Η calreticulin είναι πρωτεΐνη που ταυτοποιήθηκε αρχικά στο σαρκοπλασματικό δίκτυο των σκελετικών μυών και χρησιμεύει ως αποθήκη των ιόντων ασβεστίου στο ενδοπλασματικό δίκτυο.

Σε in vitro μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενώ in vivo καταργεί την αγγειογένεση και προλαμβάνει ή μειώνει την ανάπτυξη των όγκων. Η βαζοστατίνη αναστέλλει άμεσα και ειδικά την αύξηση των ενδοθηλιακών κυττάρων αλλά έχει ελάχιστη επίδραση σε άλλα κύτταρα. Μελέτες απέτυχαν να στηρίξουν το ρόλο του οξειδίου του αζώτου ως μεσολαβητή σε αυτή τη διαδικασία. Ωστόσο, πιστεύεται ότι η αναστολή του πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών ➪

κυττάρων είναι ο κύριος τρόπος με τον οποίο η βαζοστατίνη καταργεί την αγγειογένεση και την αύξηση του όγκου[65].

Προλακτίνη και Πλακουντιακό Γαλακτογόνο (Prolactin and Placental Lactogen, PRL και PL)

Πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι η PRL είναι σε θέση να ενισχύσει την αγγειογενετική διαδικασία. Μελέτες έδειξαν ότι η δράση της στην αγγειογένεση μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε έμμεσα, μέσω ενίσχυσης άλλων αγγειογενετικών παραγόντων προερχόμενων από μη ενδοθηλιακούς τύπους κυττάρων, είτε άμεσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα οποία στο τελευταίο στάδιο ανάπτυξης εκφράζουν τον υποδοχέα της PRL. Όμως, ο υποδοχέας αυτός δεν ανιχνεύεται σε όλους τους τύπους των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενώ η έκφρασή του στα ενδοθηλιακά κύτταρα παρατηρήθηκε σε πιο προχωρημένο στάδιο της αγγειογενετικής διαδικασίας ή κάτω από ειδικές συνθήκες. Ίσως λοιπόν τα αποτελέσματα της PRL να καθορίζονται από τον τύπο και τις τοπικές συνθήκες του αγγειακού ενδοθηλίου, το στάδιο ανάπτυξης και το χρησιμοποιούμενο μοντέλο.

Ένα κλάσμα της PRL, η 16K PRL, δρα ως αναστολέας της αγγειογένεσης σε in vitro και in vivo μελέτες. Η αντιαγγειογενετική της δράση πραγματοποιείται είτε έμμεσα είτε άμεσα. Αναστέλλει τον ενεργοποιημένο από VEGF και b-FGF πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, αναστέλλει την ανάπτυξη των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αλληλεπίδραση μεταξύ τους και με την εξωκυττάρια ουσία, αναστέλλει την αποδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας και προάγει την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Σε πρόσφατη μελέτη παρατηρήθηκε ότι είναι σε θέση να αναστείλει την αγγείωση των όγκων μέσω αναστολής της αγγειογένεσης. Ο μηχανισμός της δράσης δεν είναι πλήρως κατανοητός, ωστόσο πιθανολογείται ότι έχει ειδικό υποδοχέα διαφορετικό από την PRL.

Τα αποτελέσματα in vivo και in vitro μελετών δείχνουν ότι η 16K PRL δρα ως ειδικός αντιαγγειογενετικός παράγοντας, ενώ η PRL είναι είτε ανενεργή είτε δρα αγγειογενετικά κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες. Οι δράσεις τους εξαρτώνται από διαφορετικούς υποδοχείς. Η συμβολή της καθεμιάς ορμόνης στην αγγειογένεση θα προσδιοριζόταν από τη δραστηριότητα του ενζύμου του υπεύθυνου για τη διάσπαση της PRL και από την τοπική έκφραση των ειδικών υποδοχέων στο ενδοθήλιο ή σε άλλους τύπους κυττάρων διαφορετικών ιστών.

Η αγγειογένεση είναι καθοριστική κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του πλακούντα. Οι ορμόνες του πλακούντα ίσως ρυθμίζουν την αναδιοργάνωση και την αύξηση των μητρικών και εμβρυϊκών αγγείων. Σε έρευνες διαπιστώθηκε ότι το PL συνδέεται με υψηλή συγγένεια με τον υποδοχέα της PRL και μιμούμενο τη δράση της προάγει την αγγειογένεση κάτω από τις ίδιες συνθήκες που ενεργοποιούν την PRL.

Επιπλέον, ένα κλάσμα του PL, το 16K PL, παραγόμενο από ανασυνδυασμένο DNA, συνδέεται με τον υποδοχέα της 16K PRL και αναστέλλει την αγγειογένεση παρόμοια με τη 16K PRL. Δεν έχει βέβαια αποδειχτεί η in vivo παραγωγή του κλάσματος 16K PL, ωστόσο η PL και 16K PL έχουν δράσεις αντίστοιχες με PRL και 16K PRL και δρουν μέσω των ίδιων υποδοχέων[66].

Ειδικό Προστατικό Αντιγόνο (Prostatic Specific Antigen, PSA)

Το PSA είναι μία πρωτεάση της σερίνης και μέλος της οικογένειας των ενζύμων της ανθρώπινης καλλικρεΐνης. Τα επίπεδα του PSA στον ορό αποτελούν ευαίσθητο δείκτη για τη διάγνωση και την παρακολούθηση της θεραπείας του καρκίνου του προστάτη. Ωστόσο, το PSA δεν προέρχεται ειδικά και αποκλειστικά από το προστατικό επιθήλιο εφόσον έχει βρεθεί και σε πάσχοντες από καρκίνο του πνεύμονα αλλά και σε γυναίκες με καρκίνο του μαστού και της μήτρας. Επίσης, έχει ανιχνευθεί PSA στον ορό σε υγιείς γυναίκες αλλά και πάσχουσες από καλοήθη και κακοήθη νοσήματα του μαστού. Επιπλέον, όπως και στους άνδρες, το PSA στον καρκίνο του μαστού της γυναίκας ρυθμίζεται από τα ανδρογόνα και την προγεστερόνη. Σε μία μελέτη, οι πάσχουσες από καρκίνο του μαστού με υψηλά επίπεδα PSA είχαν καλύτερη πρόγνωση. Η έρευνα όμως έχει αποδείξει ότι το PSA πέρα από το ρόλο του στον καρκίνο του προστάτη έχει και αντιαγγειογενετικές ιδιότητες. Επιδρά στον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή του ενδοθηλιακού κυττάρου στους ιστούς. Έτσι, έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι οι αυξημένες συγκεντρώσεις του PSA σχετίζονται με την προσπάθεια του οργανισμού να πολεμήσει τον καρκίνο παράγοντας τις δικές του αντιαγγειογενετικές πρωτεΐνες.

Ωστόσο με την πάροδο του χρόνου ο καρκίνος προχωρεί παρά την αύξηση του PSA, γιατί οι τοπικοί ενεργοποιητές της αγγειογένεσης υπερτερούν της δράσης του και κυριαρχούν. Οι παρατηρήσεις αυτές συμφωνούν με άλλες που δείχνουν παράδοξη αύξηση του PSA σε καταστάσεις που συνοδεύονται από ίαση και το ότι η παραγωγή του PSA είναι ένας λόγος για τη χαρακτηριστικά αργή ανάπτυξη του καρκίνου του προστάτη. Επιπλέον, τα φάρμακα Θαλιδομίδη και TNP470 προκαλούν σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις PSA in vitro και αυτό ίσως εξηγεί την αντιαγγειογενετική τους δράση[67].

Σε πάσχοντες με ΙΦΕΝ συχνά παρατηρείται κακή θρέψη και απώλεια βάρους. Δυνητικές αιτίες είναι η μειωμένη πρόσληψη τροφής, η αυξημένη ενεργειακή κατανάλωση και η μειωμένη απορρόφηση θρεπτικών συστατικών. Αιτίες της μειωμένης πρόσληψης τροφής είναι η ανορεξία, η αποφυγή τροφής λόγω των συμπτωμάτων (πόνος, ναυτία ή απόφραξη) και η επίδραση των φαρμάκων. Από αυτά, η ανορεξία είναι η πιο σημαντική αιτία.

Τροπονίνη-Ι (Tn-I)

Συστατικά του κυτταρικού σκελετού όπως η ακτίνη-α και η τουμπουλίνη-β, φαίνεται ότι συμμετέχουν και σε άλλες διαδικασίες πέρα από το βασικό τους ρόλο. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση ότι η ακτίνη που βρίσκεται στην εξωτερική επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων λειτουργεί ως συνδετική πρωτεΐνη για την αγγειογενίνη. Επιπλέον, κάποια ισομερή της τροπομυοσίνης έχουν κατασταλτική δράση στα κύτταρα των όγκων.

Η τροπονίνη-Ι (Tn-I) είναι μια υπομονάδα του συμπλέγματος της τροπονίνης (οι άλλες δύο υπομονάδες είναι Tn-C και Tn-T) που όπως και η τροπομυοσίνη είναι υπεύθυνη για την ασβεστιοεξαρτώμενη ρύθμιση της σύσπασης των ραβδωτών μυών. Τα μικρονημάτια αποτελούνται από ακτίνη, το σύμπλεγμα της τροπονίνης και α-τροπομυοσίνη σε αναλογία 7:1:1. Η Tn-I είναι ειδικός αναστολέας της αγγειογένεσης σε in vitro και in vivo μελέτες. Οι μηχανισμοί με τους οποίους η Tn-I αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αγγειογένεση δεν είναι γνωστοί. Φαίνεται όμως ότι η αλλαγή του σχήματος του ενδοθηλιακού κυττάρου μετά από απορύθμιση του κυτταροσκελετού μπορεί να έχει επιπτώσεις στην ανάπτυξη του ενδοθηλίου και τον σχηματισμό του τριχοειδούς αγγείου. Η ύπαρξη ενός ενδοθηλιακού υποδοχέα ίσως ευθύνεται για τη δράση της Tn-I.

Η Tn-I απελευθερώνεται στον διάμεσο ιστό και τη κυκλοφορία του αίματος κατά τη διάρκεια καρδιαγγειακής βλάβης και αποτελεί ευαίσθητο δείκτη για το βαθμό της μυοκαρδιακής καταστροφής. Ίσως λόγω της ικανότητας της να αναστέλλει την αγγειογένεση, η δυσκολία της επαναιμάτωσης του ισχαιμικού μυοκαρδίου μπορεί να οφείλεται μερικώς τουλάχιστον στα υψηλά τοπικά επίπεδα αυτού του αγγειογενετικού αναστολέα[68].

2-Μεθοξυοιστραδιόλη (2-ΜΕ)

Η 2-ΜΕ προκύπτει από τον μεταβολισμό της οιστραδιόλης. Είναι ο μεγαλύτερος σε ποσότητα μεταβολίτης της οιστραδιόλης στον ορό του αίματος και οι συγκεντρώσεις της όπως και της οιστραδιόλης, αποκτούν τη μέγιστη τιμή τους στη μέση του καταμήνιου κύκλου. Παρουσιάζει μεγάλες συγκεντρώσεις στο ωοθυλακικό υγρό, όπου ρυθμίζει τις λειτουργίες διαφόρων τύπων κυττάρων με αυτοκρινή και παρακρινή τρόπο.

Ο σχηματισμός νέων αιμοφόρων αγγείων είναι υποχρεωτικός για την επιτυχή ανάπτυξη και αύξηση των ωοθυλακίων και η 2-ΜΕ είναι ένας δυνητικός αναστολέας της αγγειογένεσης και της αύξησης των όγκων. Έχει παρατηρηθεί ότι αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή των ενδοθηλιακών κυττάρων in vitro και έχει αντιαγγειογενετικά αποτελέσματα in vivo. Δρα στα πολλαπλασιαζόμενα ενδοθηλιακά και καρκινικά κύτταρα και διαθέτει αντιμιτωτικές και αποπτωτικές ικανότητες. Οι αγγειογενετικοί αναστολείς ταξινομούνται σε άμεσους και έμμεσους, οι πρώτοι στοχεύουν το ενδοθήλιο και οι δεύτεροι τους παραγόμενους αγγειογενετικούς ενεργοποιητές. Η 2-ΜΕ αρχικά ταξινομήθηκε ως άμεσος αναστολέας εξαιτίας της αντιπολλαπλασιαστικής και αποπτωτικής της δράσης στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Πρόσφατα φάνηκε ότι η 2-ΜΕ έχει και έμμεσα αντιαγγειογενετικά αποτελέσματα μέσω αναστολής των HIF-1a και HIF-2a σε καρκινικά και ενδοθηλιακά κύτταρα. Η αναστολή της πυρηνικής μεταγραφής του HIF-1a προκαλεί αναστολή της μεταγραφής και μείωση της έκφρασης VEGF. Τα αποτελέσματα της είναι δοσοεξαρτώμενα και παρατηρούνται σε κύτταρα εκτεθειμένα σε νορμοξικές ή υποξικές συνθήκες[69].

4ος Αιμοπεταλιακός Παράγοντας (Platelet Factor – 4, PF-4)

Ο PF-4 είναι πρωτεΐνη που παρουσιάζει ομολογία αμινοξέων με τη β-θρομβοσφαιρίνη και την IL-8. Η κύρια πηγή προέλευσης του PF-4 είναι τα μεγακαρυοκύτταρα και τα αιμοπετάλια και έχει παρατηρηθεί ότι εξουδετερώνει την αγγειογενετική δραστηριότητα άλλων παραγόντων σε περιπτώσεις ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και για το λόγο αυτό ο PF-4 έχει χαρακτηρισθεί ως αναστολέας της αγγειογένεσης.

Ο PF-4 αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αγγειογένεση. Επιπλέον, αναστέλλει την αγγειογενετική δραστηριότητα στα ενεργοποιημένα από άλλους παράγοντες ενδοθηλιακά κύτταρα και την ανάπτυξη των όγκων μέσω μηχανισμού που εξαρτάται από την αγγειογένεση[70]. Ο PF-4 βρέθηκε αυξημένος στον ορό και το πλάσμα ασθενών με ΙΦΕΝ, ανεξάρτητα από την ενεργότητα της νόσου[51].

Βιβλιογραφία

16. Liekens S, De Clercq E, Neyts J. Angiogenesis: regulators and clinical applications. Biochemical Pharmacology 2001; 61:253-270.
17. Griga T, Gutzeit A, Sommerkamp C, et al. Increased production of vascular endothelial growth factor by peripheral blood mononuclear cells in patients with inflammatory bowel disease. European Journal of Gastroenterology and Hepatology 1999; 11:175-179.
18. Bousvaros A, Leichtner A, Zurakowski D, et al. Elevated serum vascular endothelial growth factor in children and young adults with Crohn's Disease. Dig Dis Sci 1999; 44:424-430.
19. Ito A, Hirota S, Mizuno H et al. Expression of vascular permeability factor (VPF/VEGF) messenger RNA by plasma cells: possible involvement in the development of oedema in chronic inflammation. Pathol Int 1995; 45:715-720.
20. Kapsoritakis A, Sfiridaki A, Maltezos E, et al. Vascular endothelial growth factor in inflammatory bowel disease. Int J Colorectal Dis 2003; 18:418-422.
21. Griga T, Tromm A, Spranger J, et al. Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol 1998; 33:504-508.
22. Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Armellini E, et al. Serum bFGF and VEGF correlate respectively with bowel wall thickness and intramural blood flow in Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis 2004; 10:573-577.
23. Kanazawa S, Tsunoda T, Onuma E et al. VEGF, b-FGF and TGF-b in Crohn's Disease and Ulcerative Colitis: A novel mechanism of Chronic Intestinal Inflammation. Am J Gastroenterol 2001; 96:822-828.
24. Bousvaros A, Zurrakowski D, Fishman S, et al. Serum basic fibroblast growth factor in pediatric Crohn's disease. Dig Dis Sci 1997; 42:378-386.
25. Mizuki A, Tatemichi A, Nishiya H, et al. Mucosal concentration of basic fibroblast growth factor in the healing process in human giant gastric ulcers. J Gastroenterol Hepatol 2004; 19:528-534.
26. Ma L, Wang WP, Chow JYC, et al. Reduction of EGF is associated with the delay of ulcer healing by cigarette smoking. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2000; 278:G10-G17.
27. Grip O, Malm J, Veress B et al. Increased presence of cells containing transforming growth factor alpha (TGF-a) in ulcerative colitis, both during active inflammation and in remission. Eur J Gastroenterol Hepatol 2000; 12:761-760.
28. Fiocchi C. TGF-b/Smad signalling defects in inflammatory bowel disease: mechanisms and possible novel therapies for chronic inflammation. J Clin Invest 2001; 108:523-526.
29. Sturm A, Schulte C, Schatton R, et al. Transforming growth factor-beta and hepatocyte growth factor plasma levels in patients with inflammatory bowel disease. Eur J Gastroenterol Hepatol 2000; 12:445-450.
30. Baumgart DC, Vierziger K, Sturm A, et al. Mesalamine promotes intestinal epithelial wound healing in vitro through a TGF-beta-independent mechanism. Scand J Gastroenterology 2005; 40:958-964.
31. Oz HS, Ray M, Chen TS, McClain CJ. Efficacy of a transforming growth factors beta 2 containing nutritional support formula in a murine model of inflammatory bowel disease. J Am Coll Nutr 2004; 23:220-226.
32. Reigstad LJ, Varhaug JE, Lillehaug JR. Structural and functional specificities of PDGF-C and PDGF-D, the novel members of platelet-derived growth factors family. FEBS J 2005; 272:5723-5741.
33. Raines EW. PDGF and cardiovascular disease. Cytokine Growth Factor Rev 2004; 15:237-254.
34. Saito S, Tsuno NH, Sunami E, et al. Expression of platelet-derived endothelial cell growth factor. J Gastroenterol 2003; 38:229-237.
35. Brown NS, Jones A, Fujiyama C, et al. Thymidine phosphorylase induces carcinoma cell oxidative stress and promotes secretion of angiogenic factors. Cancer Research 2000; 60:6298-6302.
36. Arihiro S, Ohtani H, Hiwatashi N, et al. Vascular smooth muscle cells and pericytes express MMP-1, MMP-9, TIMP-1 and type I procollagen in inflammatory bowel disease. Histopathology 2001; 39:50-59.
37. Von Lampe B, Barthel B, Coupland SE, et al. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in colon mucosa of patients with inflammatory bowel disease. Gut 2000; 47:63-73.
38. Radisky DC, Bissell MJ. Matrix metalloproteinase-induced genomic instability. Curr Opin Genet Dev 2006; 16:45-50.
39. Medina C, Videla S, Radomski A, et al. Therapeutic effect of Phenantroline in two rat models of inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol 2001; 36:1314-1319.
40. Tsukada Y, Nakamura T, Iimura M, et al. Cytokine profile in colonic mucosa of ulcerative colitis correlates with disease activity and response to granulocytapheresis. Am J Gastroenterol 2002; 97:2820-2828.
41. Li MC, He SH. IL-10 and its related cytokines for treatment of inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol 2004; 10:620-625.
42. Schulte C, Goebell H, Roher HD, et al. Genetic determinants of IL-6 expression levels do not influence bone loss in inflammatory bowel disease. Dig Dis Sci 2001; 46:2521-2528.
43. Nielsen OH, Kirman I, Rudiger N, et al. Upregulation of IL-12 and -17 in active inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol 2003; 38:180-185.

44. Siegmund B. Interleukin-1b converting enzyme (caspase-1) in intestinal inflammation. Biochemical Pharmacology 2002; 64:1-8.
45. Nakamura S, Otani T, Ijiri Y, et al. IFN-γ-dependent and -independent mechanisms in adverse effects caused by concomitant administration of IL-18 and IL-12. J Immunol 2000; 164:3330-3336.
46. Banks C, Bateman A, Payne R, et al. Chemokine expression in IBD. Mucosal chemokines expression is unselectively increased in both ulcerative colitis and Crohn's disease. J Pathol 2003; 199:28-35.
47. Ardizzone S, Bianchi Porro G. Biologic therapy for inflammatory bowel disease. Drugs 2005; 65:2253-2286.
48. Isaacs KL, Lewis JD, Sandborn WJ, et al. State of the art: IBD therapy and clinical trials in IBD. Inflamm Bowel Dis 2005; 11(Suppl 1):S3-12.
49. Riordan JF, Shapiro R. Isolation and enzymatic activity of angiogenin. Methods Mol Biol 2001; 160:375-385.
50. Ribatti D, Marzullo A, Nico B, et al. Erythropoietin as an angiogenic factor in gastric carcinoma. Histopathology 2003; 42:246-250.
51. Kapsoritakis A, Koukourakis MI, Sfiridaki A et al. Mean platelet volume: a useful marker of inflammatory bowel disease activity. Am J Gastroenterol 2001; 96:776-781
52. Yamakawa M, Liu LX, Date T, et al. Hypoxia-inducible factor-1 mediates activation of cultured vascular endothelial cells by inducing multiple angiogenic factors. Circulation Research 2003; 93:664.
53. Fiedler U, Krissl T, Koidl S, et al. Angiopoietin-1 and Angiopoietin-2 share the same binding domains in the Tie-2 receptor involving the first Ig-like loop and the epidermal growth factor-like repeats. J Biol Chem 2003; 278:1721-1727.
54. Katsanos KH, Tsatsoulis A, Christodoulou D, et al. Reduced serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and IGF-binding protein-3 levels in adults with inflammatory bowel disease. Growth Horm IGF Res 2001; 11:364-367.
55. Wu AW, Gu J, Li ZF, et al. COX-2 expression and tumor angiogenesis in colorectal cancer. World J Gastroenterol 2004; 10:2323-2326.
56. Bonner GF. Using COX-2 inhibitors in IBD: Anti-inflammatories inflame a controversy. Am J Gastroenterol 2002; 97:783-784.
57. Singer II, Kawka DW, Schloemann S, et al. Cyclooxygenase 2 is induced in colonic epithelial cells in inflammatory bowel disease. Gastroenterology 1998; 115:297-306.
58. Hendel J, Nielsen OH. Expression of cyclooxygenase-2 in active inflammatory bowel disease. Am J Gastroenterol 1997; 92:1170-1173.
59. ΑΝ. Καψωριτάκης, ΣΠ. Ποταμιάνος. Ο ρόλος της διατροφής στη νόσο Crohn. Ιατρική 2005; 87:279-287.
60. Gaetke LM, Oz HS, De Villiers WJS, et al. The Leptin defense against wasting is abolished in the IL-2-deficient mouse model of inflammatory bowel disease. J Nutr 2002; 132:893-896.
61. Esemuede N, Lee T, Pierre-Paul D, et al. The role of thrombospondin-1 in human disease. Journal of Surgical Research 2004; 122:135-142.
62. Iruela-Arispe ML, Luque A, Lee N. Thrombospondin modules and angiogenesis. Int J Biochem Cell Biol 2004; 36:1070-1078.
63. Dixelius J, Cross MJ, Matsumoto T, et al. Endostatin action and intracellular signalling: b-catenin as a potential target? Cancer Letters 2003; 196:1-12.
64. Doll JA, Soff GA. Angiostatin. Cancer Treat Res 2005; 126:175-204.
65. Liu M, Imam H, Oberg K, Zhou Y. Gene transfer of vasostatin, a calreticulin fragment, into neuroendocrine tumor cells results in enhanced malignant behavior. Neuroendocrinology 2005; 82:1-10.
66. Corbacho AM, De la Escalera MG, Clapp C. Roles of prolactin and related members of the prolactin/growth hormone/placental lactogen family in angiogenesis. Journal of Endocrinology 2002; 173:219-238.
67. Cox MC, Permenter M, Figg WD. Angiogenesis and prostate cancer: Important laboratory and clinical findings. Curr Oncol Rep 2005; 7:215-219.
68. Fucumoto S, Sakaguchi T, You X, et al. Tick troponin I-like molecule is a potent inhibitor for angiogenesis. Microvasc Res 2006 April 21.
69. Mooberry SL. Mechanism of action of 2-methoxyestradiol: new developments. Drug Resistance Updates 2003; 6:355-361.
70. Slungaard A. Platelet factor 4: a chemokine enigma. Int J Biochem Cell Biol 2005; 37:1162-1167.

IG